

Tiedekunta/Osasto — Fakultät/Sektion Matemaattis-luonnontiet. osasto		Laitos — Institution Biokemian laitos	
Tekijä — Författare Aija Riikonen			
Työn nimi — Arbets titel Lysosomaalisten proteiinien solunsisäinen kuljetus			
Oppiaine — Läroämne Biokemia			
Työn laji — Arbets art Pro gradu		Aika — Datum Toukokuu 1994	Sivumäärä — Sidoantal 59
Yhteisö — Referat			
<p>Tämä pro gradu -tutkielma koostuu kirjallisuuskatsauksesta sekä kokeellisesta tutkimusosasta. Kirjallisuuskatsaus käsittelee lysosomaalisten proteiinien kuljetusta, painottuen erityisesti proteiiniliikenteen ohjaamiseen Golgista lysosomeihin. Kirjallisuuskatsauksessa ei puututa vesikkeliliikenteen energiataloudellisiin kysymyksiin, eikä esim. rab-proteiinien vaikutukseen. Kokeellinen tutkimus kuvaa lysosomaalisen entsyymin, aspartyyli-glukosaminidaasin ekspressiota CHO-soluissa. Työssä selvitetään AGU-tautiin johtavien mutaatioiden vaikutuksia AGA-entsyymin prosessointiin ja solunsisäiseen kuljetukseen.</p> <p>Lysosomaalisten proteiinien biosynteesi alkaa karkeassa endoplasmisessa retikkelissä, jonne ne ohjautuvat signaalsekvenssinsä avulla. Ensimmäisten modifikaatioiden ja oikean konformaation saavuttamisen jälkeen proteiinit ohjataan Golgiin. Tavallisesti proteiinien mannoosisokereihin liitetään fosfaattimarkkeri, ja proteiinit kuljetetaan M6P-reseptoreiden avulla lysosomeihin. Reseptorit kiertävät myös solukalvolla, josta ne voivat endosytoottisesti kuljettaa solun ulkopuolisia proteiineja lysosomeihin. Reseptoreiden liikkeitä ohjaavat pääasiassa niiden sytoplasmadomeeneissa esiintyvät signaalit. Proteiinit voidaan kuljettaa lysosomeihin myös riippumatta M6P-markkerista. Nämä proteiinit assosioituvat membraaneihin joko suoraan tai muiden proteiinien välityksellä. Lysosomaaliset membraaniproteiinit ohjataan lysosomeihin usein solukalvon kautta. Myös näiden proteiinien kuljetusta ohjaavat sytoplasmadomeeneissa esiintyvät signaalit.</p> <p>Aspartyyli-glukosaminidaasi-entsyymi (AGA) on lysosomaalinen amidaasi, joka koostuu kahdesta alayksiköstä. AGA-aktiivisuuden puuttuminen soluista johtaa lysosomaaliseen kertymäsairauteen, aspartyyli-glukosaminuriaan (AGU). AGU_{Fin}-kaksoismutaatio on yleisin AGU-tautiin johtava mutaatio, joka on vahvasti rikastunut suomalaisväestöön. AGU_{Fin}-kaksoismutaatio koostuu kahdesta pistemutaatiosta, jotka molemmat johtavat aminohappomuutokseen syntyvässä proteiinissa: Arg-161 vaihtuu glutamiiniksi ja Cys-163 seriiniksi.</p> <p>Mutaatiokonstruktioiden ekspressio stabiileissa solulinjoissa paljasti, ettei arginiinin vaihtuminen glutamiiniksi vaikuttanut millään tavalla proteiinin prosessointiin tai solunsisäiseen kuljetukseen. Sitä vastoin kysteiinin korvautuminen seriinillä esti prekursorimolekyylin prosessoinnin alayksiköiksi ja mutaation sisältävät polypeptidit kasaantuivat endoplasmiseen retikkeliin. Yllättäen osa mutatoituista polypeptideistä erittyi myös solujen kasvatusliuokseen. Tämän seurauksena pääteltiin, että mutatoituneet polypeptidit läpäisevät osittain ER-kontrollin, mutta lysosomaalisten signaalien puuttuessa ne eritetään ulos soluista.</p>			
Avainsanat — Nyckelord Proteiinikuljetus, lysosomaalinen proteiini, aspartyyli-glukosaminidaasi			
Säilyvyyspaikka — Förvaringsställe Biokemian laitoksen kirjasto			
Muuta tietoa — Övriga uppgifter			